



Attenzione: le informazioni riportate hanno solo un fine illustrativo
e non sono riferibili né a prescrizioni né a consigli medici

Sommario

- Polimorfismo genetico in *ABCC4* e reazioni avverse indotte dal trattamento con ciclofosfamide in pazienti affetti da tumore al seno
- Polimorfismi genetici nella famiglia dei trasportatori ABC: potenziali *marker* farmacogenetici della risposta a mitoxantrone nella sclerosi multipla
- Analisi dello stato di *PTEN*, *BRAF* e *EGFR* nel determinare i benefici da cetuximab nel carcinoma metastatico del colon con *KRAS wild-type*
- Mutazioni di *KRAS* e *BRAF* nel carcinoma coloretale avanzato sono associate a prognosi povera ma non precludono i benefici da oxaliplatino e irinotecan: risultati dallo studio MRC FOCUS (*Medical Research Council Fluorouracil, Oxaliplatin And Irinotecan: Use And Sequencing*)
- Associazione tra polimorfismi del *CYP2D6* e risposta clinica in donne con tumore della mammella agli stadi precoci trattate con Tamoxifen
- Polimorfismi del gene *ADRB2* e risposta ai beta agonisti inalatori a breve durata d'azione in bambini asmatici: i risultati di una metanalisi

Notizie in breve

- Il gene *NOTCH* e' responsabile del 30% delle neoplasie polmonari

POLIMORFISMO GENETICO IN *ABCC4* E REAZIONI AVVERSE INDOTTE DAL TRATTAMENTO CON CICLOFOSFAMIDE IN PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE AL SENO

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

L'utilizzo di ciclofosfamide (CPA) in associazione con altri agenti chemioterapici, in particolare antracicline, metotrexato e 5-fluorouracile, ha dato buoni risultati nel trattamento del tumore al seno; tuttavia è spesso causa di reazioni avverse (ADRs), come leucopenia e neutropenia e sintomi gastrointestinali (nausea, vomito, anoressia). La CPA è un profarmaco, attivato a livello epatico ad opera degli enzimi *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP3A4*, e *CYP3A5*. La CPA e suoi metaboliti vengono detossificati ad opera di altri enzimi tra cui le glutatione S-transferasi (*GSTA1*, *GSTM1*, *GSTP1* e *GSTT1*) e le aldeidi deidrogenasi (*ALDH1A1* e *ALDH3A1*). I geni *ABCC2* e *ABCC4* sono invece coinvolti nel trasporto della CPA e suoi metaboliti. Tutti questi enzimi sono codificati da geni caratterizzati da una grande varietà di polimorfismi, possibili responsabili della variabilità interindividuale osservata nelle concentrazioni plasmatiche dei farmaci. Gran parte degli studi che hanno indagato l'influenza genetica sulle ADRs indotte da CPA hanno focalizzato l'attenzione su enzimi coinvolti nella attivazione e detossificazione della CPA; inoltre, nessuno di essi è stato condotto su una popolazione affetta da cancro.

Per questo, gli autori hanno voluto indagare l'associazione di 143 polimorfismi (141 SNPs e 2 Del), nei 13 geni implicati in attivazione, detossificazione e trasporto di CPA, con l'insorgere di ADRs in un gruppo di pazienti affetti da tumore al seno.

La genotipizzazione (eseguita mediante *PCR-invader assay* o sequenziamento diretto) è stata dapprima eseguita su un set di 261 pazienti, 76 casi (in cui sono insorte ADR) e 140 controlli (pazienti no-ADR). Successivamente, gli SNPs che all'analisi hanno restituito un *P value* < 0.05 (*Cochran-Armitage trend test*), per l'associazione con ADRs indotte dal trattamento con CPA, sono stati analizzati su una coorte indipendente di 108 casi e 79 controlli.

Otto SNPs (CYP2C9, rs4918766; ABCC4, rs1614102, rs9561778, rs4148532, rs1729775, rs1751070, rs4771912, e rs8001444) hanno evidenziato una possibile associazione con la comparsa di ADRs. In aggiunta a questi, tre SNPs (CYP2C9, rs1934968; ABCC4, rs7988595, e rs870004), che hanno mostrato un trend di associazione (non significativa) con l'insorgere di ADRs, sono stati genotipizzati nella seconda coorte di pazienti. L'analisi di questi 11 SNPs ha evidenziato 3 SNPs (CYP2C9, rs1934968; ABCC4, rs9561778 e rs4148532) significativamente associati alla comparsa di ADRs, ma solo ABCC4 rs9561778 rimane significativo dopo applicazione della correzione di Bonferroni (*Cochran-Armitage trend's P* = 0.0031; Bonferroni-corretto *P* = 0.044; OR 2.06, 95% CI: 1.36-3.11). In virtù di questo, gli autori hanno genotipizzato i tagSNP del gene ABCC4, identificando un aplotipo di rischio di ADRs, il cui effetto tuttavia è meno forte rispetto a quella del singolo SNP rs9561778 (*P* = 0.011; OR 1.89 vs *P* = 0.0031; OR 2.06).

Nell'analisi successiva i casi sono stati divisi in due sottogruppi: pazienti con tossicità gastrointestinale (GI) di grado ≥ 2 (118 casi) e quelli con leucopenia/neutropenia (LN) di grado ≥ 3 (91 casi). L'analisi ha rilevato ancora una volta il ruolo significativo dello SNP ABCC4 rs9561778 nell'insorgere sia della tossicità GI (*Cochran-Armitage trend's P* = 0.00019; OR = 2.31, 95% CI: 1.45-3.68) che della LN (*Cochran-Armitage trend's P* = 0.014; OR = 1.82; 95% CI: 1.10-3.05). Successivamente gli autori hanno voluto indagare il ruolo dello SNP ABCC4 rs9561778 nelle ADRs indotte dal trattamento CPA con antraciline, uno dei più impiegati nella terapia del tumore al seno, ed anche il più rappresentativo in questo studio (146 ADRs e 80 non-ADR). L'analisi ha nuovamente evidenziato un'associazione significativa tra lo SNP ABCC4 rs9561778 (*Cochran-Armitage trend's P* = 0.00028; OR = 3.13; 95% CI: 1.68-5.83).

In conclusione, attraverso uno studio *gene candidate* gli autori, hanno identificato un'associazione significativa tra il genotipo di ABCC4, in particolare lo SNP con rs9561778, e le ADRs indotte dal trattamento con CPA.

ABCC4 è espresso a livello renale nella membrana apicale del tubulo prossimale. Questa sua localizzazione, supportata da diverse evidenze in letteratura, conferisce ad ABCC4 il ruolo di pompa di efflusso per l'escrezione urinaria di CPA. Naturalmente, come sottolineato dagli stessi autori, l'associazione va confermata in ulteriori studi con un numero maggiore di pazienti, mentre il meccanismo alla base delle ADRs andrebbe elucidato mediante analisi molecolari.

Parole chiave: Ciclofosfamide, Tumore al seno, ABCC4

Riferimento bibliografico

[Low SK](#) et al. *J Hum Genet* 2009, 54(10):564-71.

POLIMORFISMI GENETICI NELLA FAMIGLIA DEI TRASPORTATORI ABC: POTENZIALI MARKER FARMACOGENETICI DELLA RISPOSTA A MITOXANTRONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

Il mitoxantrone (MX) è raccomandato nel trattamento delle forme particolarmente attive di sclerosi multipla (SM), refrattarie ai tradizionali immunomodulatori, e delle forme progressive. L'impiego di MX è stato associato ad effetti, in parte dose dipendente, quali cardiotoxicità e leucemia mieloide acuta secondaria al

trattamento, che ne limitano l'utilizzo. Per questo è essenziale poter identificare *biomarkers* che permettano una stratificazione del rischio individuale e di dosare in modo personalizzato il MX.

I trasportatori *ATP-binding cassette* (ABC), largamente espressi nell'organismo, a livello del sistema nervoso centrale influenzano l'accumulo dei principali farmaci impiegati nel trattamento di tumore al cervello, epilessia e disordini psichiatrici. I trasportatori ABCB1 ed ABCG2, in particolare, mediano l'efflusso cellulare del MX. In virtù di queste considerazioni gli autori hanno investigato il ruolo di SNPs nei trasportatori della famiglia ABC nella risposta al MX, avvalorando l'ipotesi con sperimentazioni *in vitro* e *in vivo*.

Sono stati genotipizzati 832 pazienti affetti da SM, arruolati in Germania e in Spagna, e 264 controlli senza anamnesi di malattie neurologiche. In particolare sono stati analizzati SNPs su ABCB1 (rs1045642 e rs2032582, quest'ultimo indagato solo sui trattati con MX) e ABCG2 (rs2231137 e rs2231142). Il 14.8% dei pazienti sono risultati omozigote *wild type* in entrambi i geni, ABCB1 e ABCG2, il 22.2%, eterozigote in entrambi, il 63.1%, eterozigote in almeno uno dei due geni. L'analisi degli SNPs di ABCB1 non ha evidenziato differenze tra casi e controlli; la frequenza dello SNP ABCG2 rs2231137 è più bassa nei casi rispetto ai controlli (0.03 vs 0.05%; $P=0.023$), mentre non sono state osservate differenze nella frequenza dello SNP ABCG2 rs2231142.

Successivamente sono stati quantificati i livelli di mRNA di ABCB1 e ABCG2. Dall'analisi è emerso che l'espressione di ABCG2 nella frazione CD56⁺ è 3.9 volte più alta rispetto a quella in cellule mononucleate non separate di sangue periferico e nella frazione cellulare B CD19⁺. In aggiunta, sono stati riscontrati alti livelli di espressione di ABCG2 ed ABCB1 in cellule umane del SNC, in particolare oligodendrociti e microglia.

L'efflusso di MX è stato valutato *in vitro* nella frazione CD56⁺ in un saggio basato sulla valutazione del MX intracellulare mediante citometria a flusso, in presenza o assenza di specifici inibitori dei trasportatori ABC [PSC-833 per ABCB1, Fumitremorgina C (FTC) per ABCG2, Elacridar per entrambi]. In particolare l'efflusso di MX nella frazione CD56⁺ provenienti da un paziente ABCB1\ABCG2 *wild type* è stato comparato con quello di un paziente che presenta varianti alleliche ABCB1\ABCG2. Utilizzando l'inibitore comune Elacridar, si è osservato che il primo paziente è caratterizzato da un efflusso di MX maggiore rispetto al secondo e per questo sono stati indicati rispettivamente come ABCB1\ABCG2-**H** (*high efflux*) e ABCB1\ABCG2-**L** (*low efflux*). Tale effetto genotipo-dipendente è meno pronunciato *nell'assay* con l'inibitore ABCB1 specifico (PSC-833), mentre non si osservano effetti con l'inibitore ABCG2 specifico FTC. Nei pazienti affetti da SM, e similmente nei controlli sani, l'aumentato accumulo intracellulare di MX, che si osserva in presenza del genotipo ABCB1\ABCG2-**L**, determina una più grande proporzione di morte cellulare (MX⁺/AnnexinA^V⁻ *cell assay*) rispetto a quanto osservato nei pazienti e controlli sani ABCB1\ABCG2-**H**. L'analisi di una coppia di pazienti affetti da MS e quattro coppie di controlli sani evidenzia che individui ABCB1\ABCG2-**L** presentano un incremento significativo della morte cellulare ($P < 0.05$) rispetto agli individui ABCB1\ABCG2-**H**. Tale effetto è mediato dalla combinazione del genotipo ABCB1\ABCG2. Infatti, in presenza dell'inibitore ABCB1\ABCG2, Elacridar, si osserva un incremento significativo della morte cellulare (21,9%, $P < 0.05$) nei soggetti ABCB1\ABCG2-**H**; tale effetto invece è modesto, e non significativo, nei soggetti ABCB1\ABCG2-**L** (3.5%).

Per chiarire ulteriormente il significato del genotipo dei trasportatori ABC, gli autori hanno condotto esperimenti *in vivo*, su topi (ABCG2 wt vs ABCG2^{-/-}) con encefalite autoimmune sperimentalmente indotta (EAS). Il trattamento con dosi subottimali di MX migliora il quadro clinico dell'EAS nei topi ABCG2^{-/-} ($P < 0.001$), non negli ABCG2 wt, il cui decorso clinico non risulta alterato. I miglioramenti osservati sono confermati dal punto di vista istologico, per cui il trattamento con MX determina una riduzione della demielinizzazione del cordone spinale nei topi ABCG2^{-/-} ($P < 0.01$), ma non in quelli ABCG2 wt.

Da ultimo gli autori hanno valutato gli effetti del genotipo ABC sulla risposta al MX. L'analisi in particolare è stata condotta retrospettivamente su 309 pazienti trattati in monoterapia con MX ($n = 155$ pazienti; 78,1% responsivi), o MX in combinazione con glucocorticosteroidi (GC; $n = 154$ pazienti; 59,1% responsivi). La responsività al trattamento è stata valutata considerando parametri quali tasso di recidiva, scala di disabilità (EDSS) e il Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) che fornisce una misura della funzionalità degli arti inferiori, di quelli superiori e dei movimenti fini e delle funzioni cognitive. L'analisi del gruppo di pazienti in monoterapia ha evidenziato un'associazione significativa ($P = 0.039$) tra il genotipo ABCB1\ABCG2 e la risposta alla terapia. Pazienti con genotipo ABCB1\ABCG2-**H** hanno il minor grado di risposta al MX (62.5% responsivi); pazienti che presentano una variante allelica in uno soltanto dei due trasportatori (genotipo ABCB1\ABCG2-**I**: efflusso intermedio), esibiscono un tasso di risposta intermedio

(79.6% responsivi); infine l'84,8% dei pazienti con genotipo ABCB1\ABCG2-**L** rispondono al trattamento. L'OR calcolato per la risposta al trattamento è di 1,9 tra ABCB1\ABCG2-**H** e ABCB1\ABCG2-**I**, mentre è di 3.5 tra ABCB1\ABCG2-**H** e ABCB1\ABCG2-**L**. L'analisi del trattamento di combinazione MX e GC non ha evidenziato un chiaro effetto del genotipo sulla risposta osservata.

L'alterazione dell'efflusso di MX può render conto degli effetti collaterali osservati, per questo gli autori hanno analizzato la distribuzione del genotipo nei pazienti con severi effetti collaterali a livello cardiaco o ematologico. Considerata l'ampiezza relativamente piccola della coorte di pazienti ($n = 36$) con tali effetti, non sono state evidenziate associazioni significative con la distribuzione del genotipo. Gli autori, tuttavia riportano il caso di una paziente che ha sviluppato severo scompenso cardiaco che presentava un genotipo piuttosto raro nella coorte analizzata, con due varianti in omozigosi nel gene ABCB1, una variante in omozigosi in ABCG2 e un ulteriore gene appartenente alla famiglia ABC in eterozigosi [ABCB1 2677TT e 3435TT, ABCG2 141KK, e ABCC2 CT (rs717620)].

In conclusione la genotipizzazione dei trasportatori appartenenti alla famiglia ABC può essere importante quale *marker* farmacogenetico di risposta al trattamento monoterapico con MX, in pazienti affetti da SM. I dati riguardo la risposta al trattamento di combinazione MX/GC non sono esaustivi e per questo richiedono ulteriori indagini.

Gli autori sottolineano che non si possano trarre conclusioni definitive riguardo la predominanza di un trasportatore, o il coinvolgimento di altri appartenenti alla famiglia ABC, sul trasporto e l'efficacia del MX. Tuttavia, l'influenza sull'efficacia terapeutica osservata nei topi ABCG2^{-/-} corroborano l'ipotesi di un suo ruolo predominante.

Conflitti d'interesse: Gli autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti dalla Merck Serono.

Parole chiave: Mitoxantrone, Sclerosi multipla, ABCB1 e ABCG2

Riferimento bibliografico

Cotte S et al. *Brain* 2009, 132: 2517–30

ANALISI DELLO STATO DI *PTEN*, *BRAF* E *EGFR* NEL DETERMINARE I BENEFICI DA CETUXIMAB NEL CARCINOMA METASTATICO DEL COLON CON *KRAS WILD-TYPE*

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Cetuximab e panitumumab sono anticorpi monoclonali diretti contro il recettore per l'*epidermal growth factor* (EGFR) utilizzati da soli o in combinazione a fluorouracile, irinotecan e oxaliplatino nel carcinoma coloretale metastatico (mCRC). L'EMA ha recentemente limitato la prescrizione di questi farmaci a pazienti con tumori *KRAS wild-type*, visto il crescente numero di studi che dimostra come mutazioni attivanti della proteina KRAS, che trasduce parzialmente il segnale di attivazione di EGFR, annullano gli effetti terapeutici della terapia anti-EGFR. Purtroppo la selezione dei pazienti sulla base dello stato di *KRAS* è un processo imperfetto e il 40-60% dei pazienti con *KRAS wild-type* non risponde alla terapia, evidenziando come esistano altri importanti *marker* molecolari di risposta ancora da identificare. Questi determinanti potrebbero essere componenti del *pathway* di segnale attivato da EGFR, come EGFR stesso, *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog gene*) e *BRAF* (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*), spesso geneticamente alterati nel carcinoma del colon.

Scopo di questo lavoro è stato determinare l'amplificazione di *EGFR*, l'espressione della proteina *PTEN* e le mutazioni di *KRAS* e *BRAF* in una grande coorte di pazienti con mCRC e verificare se questi *marker* molecolari potessero predire l'efficacia del trattamento con cetuximab.

Sono stati retrospettivamente raccolti campioni tumorali da 173 pazienti con mCRC, provenienti da 6 ospedali francesi; 3 avevano ricevuto solamente cetuximab, 141 cetuximab + irinotecan e 28 una combinazione di folfiri e cetuximab. Gli *outcome* sono stati l'*overall survival* (OS), la *progression-free*

survival (PFS) e la risposta basata sui criteri *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* (RECIST) (54 pazienti erano *responder*).

Sono state identificate 53 (31,3%) mutazioni attivanti del gene *KRAS* sui codoni 12 e 13 in 169 pazienti; come atteso, *KRAS* è un forte predittore dell'efficacia del farmaco: le mutazioni di *KRAS* sono associate a mancata risposta ($p<0,001$), a un più breve periodo di PFS ($p<0,001$) e un più breve OS ($p<0,001$).

La mutazione V600E di *BRAF* è stata determinata sull'intera popolazione: 5 (3%) dei 171 tumori erano mutati e tutti *KRAS wild-type*. Nei pazienti *KRAS wild-type* ($n=116$), le mutazioni di *BRAF* erano associate a una mancata risposta ($p=0,063$) e sia PFS che OS più corti ($p<0,001$ per entrambi). Il PFS di questi pazienti è simile a quello dei pazienti con mutazioni di *KRAS*.

L'amplificazione di *EGFR* è stata determinata in 138 dei 173 pazienti; alta polisomia o amplificazione di *EGFR* (fenotipo FISH positivo) è stata rilevata in 22 campioni, di cui 17 (77,3%) nei 96 tumori *KRAS wild-type* (17,7%). Nel sottogruppo *KRAS wild-type*, il fenotipo *EGFR* FISH-positivo è stato correlato a un maggior tasso di risposta (71% vs 37% nei tumori con numero di copie di *EGFR* normale, $p=0,015$) e a PFS e OS più lunghi, anche se tale aumento non ha raggiunto la significatività statistica.

La mancata espressione di *PTEN* è stata osservata in 31 (19%) di 162 campioni valutati, tra cui 22 (19,8%) di 111 pazienti *KRAS wild-type*; in questo sottogruppo, la mancata espressione di *PTEN* è stata associata a un più breve OS ($p=0,013$), ma non alla risposta o al PFS.

E' stata condotta un'analisi multivariata che ha incluso aggiustamenti per altre variabili come sesso, età, numero di precedenti regimi di chemioterapia prima del trattamento con farmaci anti-EGFR, tipo di tumore e materiale utilizzato per determinare lo stato dei biomarker (tumore primario o metastatico). Da questa analisi è emerso come *EGFR* e *BRAF* siano predittori significativi di risposta e come questa associazione sia significativa per *EGFR* anche in sottogruppi di pazienti *wild-type* sia per *KRAS* che per *BRAF*. Inoltre è stato evidenziato come *PTEN* e *BRAF* siano predittori dell'*overall survival*.

In conclusione, nei pazienti con *KRAS wild-type*, le mutazioni di *BRAF* sono associate alla risposta, al PFS e all'OS, l'amplificazione di *EGFR* alla risposta e l'espressione della proteina *PTEN* all'OS.

Questi dati sono basati sull'analisi retrospettiva di una coorte non proveniente da un *clinical trial* e devono quindi essere validati da successivi studi prima di poter essere utilizzati nella pratica clinica, ma chiaramente supportano l'idea emergente che la determinazione delle alterazioni genetiche delle vie di segnale di *EGFR* possa predire in modo accurato i pazienti che possono trarre benefici dal trattamento anti-EGFR.

Conflitti di interesse: alcuni autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da ditte farmaceutiche

Parole chiave: cetuximab, *KRAS*, pathway di *EGFR*, carcinoma coloretale

Riferimento bibliografico

[Laurent-Puig P et al. J Clin Oncol 2009, 27\(35\): 5924-30](#)

MUTAZIONI DI *KRAS* E *BRAF* NEL CARCINOMA COLORETTALE AVANZATO SONO ASSOCIATE A PROGnosi POVERA MA NON PRECLUDONO I BENEFICI DA OXALIPLATINO E IRINOTECAN: RISULTATI DALLO STUDIO MRC FOCUS (MEDICAL RESEARCH COUNCIL FLUOROURACIL, OXALIPLATIN AND IRINOTECAN: USE AND SEQUENCING)

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Le mutazioni di *KRAS* nei codoni 12, 13 e 61 sono comuni nei tumori coloretali e determinano un'attivazione costitutiva della proteina ras, che causa un'attivazione del pathway delle MAPK EGFR-indipendente; tali mutazioni precludono la risposta alla terapia con anticorpi monoclonali anti-EGFR. Un'altra mutazione comune nel carcinoma coloretale riguarda *BRAF*, altra componente del pathway di trasduzione del segnale EGFR-MAPK; la mutazione V600E sembra conferire resistenza agli anticorpi anti-EGFR, ma, data la sua bassa prevalenza, questo dato è difficile da confermare clinicamente.

Obiettivo dello studio è stato stabilire se queste mutazioni, oltre a precludere i benefici dalla terapia anti EGFR, potessero influenzare anche la risposta ad altri farmaci o la prognosi indipendentemente dal trattamento. Le mutazioni di *KRAS* e *BRAF* sono state determinate nei partecipanti al grande studio clinico MRC – FOCUS, in cui non sono state somministrate *targeted therapy* e i pazienti sono stati randomizzati a ricevere sequenze differenti di chemioterapici, che includevano fluorouracile (FU) da solo, FU/irinotecan o FU/oxaliplatino; il disegno dello studio permetteva così di stabilire il significato prognostico delle mutazioni di *KRAS* e *BRAF*, indipendentemente dalla terapia anti-EGFR, e il loro valore predittivo per benefici da irinotecan e oxaliplatino.

Tra il 2000 e il 2003, 2135 pazienti sono stati randomizzati in 3 diverse strategie terapeutiche: nei gruppi A e B, la terapia di prima linea prevedeva FU da solo, seguito al momento della progressione da irinotecan da solo (A) o da un'associazione (B), che rappresentava invece la terapia di prima scelta nel gruppo (C). Nei gruppi B e C, la terapia di combinazione era randomizzata ugualmente tra FU/irinotecan e FU/oxaliplatino. Per l'analisi molecolare, sono stati utilizzati tutti i campioni provenienti dai pazienti dei gruppi B e C. Gli *end-point* clinici utilizzati sono stati il *progression-free survival* (PFS) e l'*overall survival* (OS), definiti come tempo che intercorre tra la randomizzazione e la prima evidenza di progressione tumorale il primo, e la morte per qualsiasi causa il secondo.

Campioni tumorali erano disponibili da 711 (50%) pazienti dei 1425 pazienti assegnati ai gruppi B e C; le caratteristiche basali e gli *outcome* di sopravvivenza erano ben bilanciati tra i gruppi e simili a quelli dell'intera popolazione. Di 693 (97,5%) pazienti erano disponibili il PFS e l'OS: 674 (97,3%) sono andati incontro a progressione della malattia durante il *follow-up* e 608 (87,7%) sono morti, di cui oltre il 90% per il carcinoma coloretale.

288 (40,5%) pazienti presentavano mutazioni di *KRAS* nei codoni 12 e 13, mentre 422 (59,4%) erano *wild-type*; in 23 (3,2%) pazienti sono state determinate mutazioni a carico del codone 61 e in 3 sia a carico di 12/13 che 61. In totale 308 (43,3%) campioni erano *KRAS*-mutati (mut) e 399 (55,1%) *KRAS wild-type* (wt). 56 campioni erano *BRAF*-mut (7,9%) e 654 *BRAF*-wt. Solo 4 tumori contenevano sia mutazioni di *BRAF* che di *KRAS*; 360 (50,6%) campioni avevano almeno una mutazione.

I pazienti con *KRAS*-mut hanno avuto un peggior OS rispetto ai pazienti *KRAS*-wt (HR 1,24, 95% CI 1,06-1,46, $p=0,008$), mentre lo stato di *KRAS* non sembra aver effetti su PFS sia in un'analisi semplice che multivariata. Analogamente *BRAF*-mut da solo non influenza PFS, ma è un *marker* prognostico negativo per OS (HR 1,82, 95% CI 1,36-2,43, $p<0,0001$). Combinando i dati di *KRAS* e *BRAF* si evidenzia un effetto modesto su PFS (HR 1,16, 95% CI 1,00-1,36, $p=0,05$ per l'analisi semplice e HR 1,20, 95% CI 1,01-1,41, $p=0,03$) e un peggior OS (HR 1,40, 95% CI 1,20-1,65, $p<0,0001$).

Non sono invece emerse evidenze che *KRAS* o *BRAF* rappresentino *biomarker* predittivi di risposta a irinotecan e oxaliplatino: i pazienti possono beneficiare di queste terapie indipendentemente dallo stato di *KRAS/BRAF*.

In conclusione, anche in pazienti non trattati con *targeted therapy*, le mutazioni attivanti degli oncogeni *KRAS* e *BRAF* sono associate ad una minore sopravvivenza, ma pazienti che presentino tali mutazioni possono comunque beneficiare della terapia con farmaci citotossici.

La bassa frequenza delle mutazioni di *BRAF* fa sì che questo studio non abbia una potenza sufficiente per determinare o escludere un effetto *BRAF*-specifico: è stato infatti osservato un maggior efficacia dell'oxaliplatino in pazienti con tumori *BRAF*-mut, ma questo dato non è statisticamente significativo.

Parole chiave: KRAS, BRAF, carcinoma coloretale, farmaci citotossici

Riferimento bibliografico

[Richman SD](#) et al. *J Clin Oncol* 2009, 27(35): 5931-37

L'editoriale di accompagnamento ai lavori di Laurent-Puig e Richman, a cura di Bertagnoli, sottolinea come i risultati ottenuti siano impressionanti, poiché mostrano come la risposta alla terapia con farmaci anti-EGFR sia uguale al controllo per i pazienti con tumori *KRAS*-mut. Se i risultati ottenuti da Laurent-Puig et al. saranno confermati da ulteriori studi, circa il 70% dei pazienti con mCRC potrà essere razionalmente escluso dalla terapia anti-EGFR, evitando quindi la somministrazione di farmaci non efficaci e molto costosi.

La storia di EGFR/KRAS è un esempio eccellente di come capire il *signalling pathway* coinvolto nella risposta clinica a un farmaco porti con successo all'identificazione dei pazienti che maggiormente possono trarre benefici dalla terapia. Questi studi evidenziano come, una volta che è stata identificata l'implicazione di un membro del *pathway*, anche gli altri debbano essere studiati per poter spiegare in un contesto clinico anche eventi che avvengono con bassa frequenza.

La validazione clinica di *biomarker* può anche guidare la scoperta di nuovi farmaci, per esempio la ricerca di nuovi farmaci che possano superare l'attivazione costitutiva di KRAS. Questi dati forniscono ulteriori informazioni sulla biologia di EGFR e potrebbero portare a identificare nuovi *biomarker* e trattamenti efficaci per i tumori KRAS-mut.

Riferimento bibliografico

Bertagnolli MM *J Clin Oncol* 2009, 27(35): 5866-67

ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI DEL CYP2D6 E RISPOSTA CLINICA IN DONNE CON TUMORE DELLA MAMMELLA AGLI STADI PRECOCI TRATTATE CON TAMOXIFEN

A cura del Prof. Diego Fornasari

Il Tamoxifen costituisce da 25 anni la terapia endocrina di riferimento nel trattamento dei tumori della mammella che esprimono il recettore degli estrogeni. L'azione inibitoria sulla proliferazione è in realtà mediata dai metaboliti del tamoxifen, 4-idrossitamoxifen e endoxifen, che, con meccanismi molecolari diversi, interferiscono con l'azione del recettore degli estrogeni. I metaboliti del tamoxifen sono il prodotto dell'azione del CYP2D6, il cui gene presenta approssimativamente 100 varianti genetiche che si manifestano nella popolazione in 4 diversi fenotipi: EM (*extensive metabolizer*), con normale attività metabolica, IM (*intermediate*), con attività ridotta, PM (*poor*), con nessuna attività, e UM (*ultrarapid*), con accentuata attività legata a duplicazioni del gene, fino a 13 copie. È stato ipotizzato che la concentrazione dei metaboliti attivi sia correlata con l'assetto genotipico delle pazienti, con importanti influenze sulla risposta terapeutica, come peraltro dimostrato da alcuni studi condotti in Europa e Asia, seppure di più piccole dimensioni e con evidenze statistiche meno solide. Bisogna inoltre ricordare che almeno 3 diversi studi hanno presentato risultati discordanti.

Lo studio qui descritto si propone di stabilire, sulla base di robuste evidenze statistiche, che variazioni genetiche nel CYP2D6 possano condizionare la risposta terapeutica al Tamoxifen.

Lo studio includeva pazienti alle quali era stata prescritta per la durata di 5 anni la terapia adiuvante con Tamoxifen. I criteri di inclusione consistevano i) nella diagnosi istologica di tumore della mammella (stadi I, II e III), ii) nessuna chemioterapia o trattamento endocrino diverso dal Tamoxifen, iii) nessuna metastasi al momento della diagnosi, iv) positività immunohistochimica del tumore per la presenza del recettore degli estrogeni.

Un totale di 1580 pazienti, provenienti da 2 distinte coorti veniva incluso nello studio: una coorte tedesca retrospettivamente arruolata, e una coorte americana, arruolata prospetticamente, costituita da pazienti partecipanti a un *trial* clinico di fase 3 che si proponeva di comparare il Tamoxifen in monoterapia con una combinazione Tamoxifen/Fluoximesterone in donne in post-menopausa.

L'obiettivo primario dello studio era valutare l'associazione tra varianti genetiche del CYP2D6 e la risposta clinica al Tamoxifen definita come: i) *Time to recurrence*, intervallo temporale, misurato a partire dalla diagnosi o dalla randomizzazione, libero da recidive; ii) *Event-free survival*, intervallo temporale dalla diagnosi fino ad un successivo evento a livello mammario o alla morte per qualsiasi causa; iii) *Disease-free survival*, intervallo libero da malattia inteso come intervallo temporale fino alla prima recidiva, a un secondo tumore non mammario o alla morte per qualsiasi causa; iv) *Overall survival* inteso come intervallo di tempo dalla registrazione alla morte per qualsiasi causa.

Dei 1580 pazienti originalmente considerati, per vari motivi solo 1361 venivano effettivamente arruolati, e il loro DNA proveniva da: sangue (601 pazienti), tumore congelato (101 pazienti), blocchetti di paraffina (659 pazienti). Le relazioni genotipo-fenotipo sono state definite sulla base di noti effetti di polimorfismi sulle

proprietà biochimiche e farmacologiche dell'enzima. A titolo di esempio il fenotipo PM è attribuito a pazienti omozigoti per le varianti CYP2D6*3,*4 o*5 o eterozigoti per combinazioni di questi alleli. Nello studio venivano utilizzate le seguenti relazioni genotipo-fenotipo: EM (EM/EM), IM (IM/IM, IM/PM, IM/EM, EM/PM), PM (PM/PM)

L'analisi farmacogenetica veniva effettivamente condotta su 1325 pazienti, ottenendo la seguente distribuzione di fenotipi: 609 EM (45,9%), 637 IM (48,1%), 79 PM (5,9%), 20 UM (2,3%).

Lo studio dimostra che vi è un aumento nella frequenza di recidive o di morte in relazione al fenotipo, con gli EM che a 9 anni di *follow-up* presentano il 14,9% di recidive, gli IM il 20,9% e i PM il 29%. Relativamente a tutte le cause di morte, le frequenze erano 16,7%, 18% e 22,9%, rispettivamente.

Comparati ai fenotipi EM, gli IM e i PM presentavano un aumentato rischio di recidiva, un peggiore *event-free survival* e *disease-free survival*, ma non differenze staticamente significative del parametro *overall survival*.

Questo studio fornisce per la prima volta evidenze, supportate da una statistica sufficientemente potente, che i polimorfismi del CYP2D6 determinano differenti risposte terapeutiche al Tamoxifen in donne trattate per tumore mammario positivo per il recettore degli estrogeni. Pazienti in terapia con Tamoxifen con fenotipo PM e che pertanto non hanno attività enzimatica del CYP2D6 hanno un rischio circa doppio di sviluppare recidive rispetto a pazienti con 2 varianti funzionanti, cioè con fenotipo EM. A conferma della dipendenza della risposta clinica dal numero di alleli funzionanti, i fenotipi IM hanno un rischio intermedio, mentre gli UM, portatori di duplicazioni del gene, che costituiscono solo il 2,3% del campione (20 pazienti), potrebbero essere quelli che hanno la risposta migliore al Tamoxifen.

In donne con tumore mammario trattate con Tamoxifen vi è un'associazione tra varianti alleliche del CYP2D6 e risposta clinica. La presenza di 2, o più, varianti alleliche funzionanti è associata con una migliore risposta clinica, mentre la presenza di 1 o 0 alleli funzionanti correla con una prognosi peggiore.

Conflitto di interesse: gli Autori dichiarano diversi tipi di rapporti professionali con aziende farmaceutiche.

Parole chiave: CYP2D6, Tamoxifen, tumore mammario, recettore per gli estrogeni

Riferimento bibliografico

[Schroth W](#) et al. *JAMA* 2009, 302 (13): 1429-36.

POLIMORFISMI DEL GENE ADRB2 E RISPOSTA AI BETA AGONISTI INALATORI A BREVE DURATA D'AZIONE IN BAMBINI ASMATICI: I RISULTATI DI UNA METANALISI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Gli agonisti β_2 -adrenergici a breve durata d'azione per via inalatoria (SABA) (salbutamolo, fenoterolo, terbutalina e reproterolo) sono farmaci di prima scelta nella terapia dell'attacco acuto di asma in età pediatrica. La variabilità inter-individuale della risposta dipende verosimilmente dall'interazione di fattori clinici, ambientali e genetici. I polimorfismi del gene che codifica per il recettore adrenergico β_2 (ADRB2) rappresentano un potenziale meccanismo di resistenza al trattamento con agonisti β_2 -adrenergici. Infatti, alcuni studi suggeriscono un'associazione significativa dei polimorfismi funzionali Arg16Gly e Gln27Glu del gene ADRB2 con la risposta di pazienti pediatrici al trattamento con SABA, tuttavia il numero limitato di pazienti arruolati e la presenza in letteratura di dati discordanti rende difficile trarre delle conclusioni.

Gli Autori in questo studio hanno condotto una revisione sistematica della letteratura ed effettuato una metanalisi degli studi rilevanti al fine di meglio caratterizzare il ruolo dei polimorfismi Arg16Gly e Gln27Glu nella risposta acuta di bambini asmatici ai β_2 agonisti da inalazione.

La revisione della letteratura rilevante è stata effettuata attraverso la consultazione delle banche dati MEDLINE e EMBASE e limitata al periodo compreso tra gennaio 1966 e novembre 2008. Nella metanalisi sono stati inclusi gli studi caso-controllo o studi di coorte che riportavano la distribuzione dei polimorfismi Arg16Gly e Gln27Glu del gene ADRB2 in relazione alla risposta di pazienti asmatici pediatrici al trattamento con SABA. Sono stati considerati eleggibili unicamente gli studi che valutavano la risposta broncodilatatoria come aumento di FEV₁ (volume di aria emesso nel primo secondo di una espirazione forzata) di almeno il 15% rispetto al valore pre-trattamento. I dati estratti dagli studi inclusi nella metanalisi sono stati analizzati mediante il software *Cochrane's Review Manager* (versione 4.1). Per la stima dell'effetto globale e del suo intervallo di confidenza è stato utilizzato un modello a effetti casuali. L'eterogeneità statistica è stata valutata mediante sia il test del chi-quadro che l'indice I² o indice di Inconsistenza, che rappresenta la percentuale di variabilità dovuta alla eterogeneità piuttosto che al caso.

Sulla base dei criteri di selezione utilizzati, tre studi risultano eleggibili per la meta-analisi, mentre sette studi sono stati esclusi o perché utilizzavano altri parametri clinici per la valutazione della risposta broncodilatatoria o riguardavano gli agonisti β₂-adrenergici a lunga durata d'azione o perché includevano pazienti con malattia polmonare cronica o non riportavano dati dicotomizzati (*responders vs non responders*). I tre studi inclusi nella metanalisi comprendono in totale 960 bambini asmatici, dei quali 268 classificati *responders* e 692 *non responders* al trattamento con SABA per via inalatoria. I risultati della metanalisi evidenziano che i bambini asmatici con genotipo Arg16Arg hanno una maggiore probabilità di rispondere al trattamento, rispetto ai portatori del genotipo Arg16Gly o Gly16Gly (OR=1.77; 95% CI 1.01-3.1, p< 0.029). Il maggior beneficio degli omozigoti Arg16Arg appare più consistente se si considerano unicamente i bambini di origine afro-americana (OR=3.54; 95% CI 1.37-9.13). Il polimorfismo Gln27Glu del gene ADRB2 non risulta invece associato alla risposta ai β₂ agonisti per via inalatoria (OR=1.04; 95% CI 0.76-1.42).

Malgrado le metanalisi possano sovrastimare l'effetto a causa del *publication bias* e dipendere dalla esaustività della ricerca degli studi rilevanti e dalla qualità degli studi inclusi, offrono il vantaggio di possedere una maggiore potenza statistica rispetto ai singoli studi e di poter effettuare analisi di sottogruppi.

I risultati di questa metanalisi mostrano che i bambini asmatici che possiedono il genotipo Arg16Arg del gene ADRB2 hanno una maggiore probabilità di rispondere al trattamento acuto con beta agonisti a breve durata d'azione per via inalatoria. Tale beneficio risulta più consistente nei bambini asmatici di origine afro-americana.

In letteratura esistono dati discordanti riguardo l'associazione dei polimorfismi Arg16Gly e Gln27Glu del gene ADRB2 con la risposta al trattamento con agonisti β₂-adrenergici da inalazione. Tale discordanza potrebbe essere ascritta non solo al numero limitato di pazienti arruolati ma, come suggeriscono alcuni autori, dal fatto che la risposta al trattamento potrebbe essere associata a specifici aplotipi del gene ADRB2, piuttosto che ai singoli polimorfismi. L'utilizzo di entrambi gli approcci dovrebbe consentire di chiarire questo aspetto. Se verrà confermata la possibilità di identificare i pazienti pediatrici a maggior rischio di non rispondere al trattamento con agonisti adrenergici, lo *screening* farmacogenetico permetterà di individuare i pazienti ad alto rischio che potrebbero beneficiare da approcci terapeutici alternativi.

Parole chiave: recettore β₂ adrenergico, polimorfismo Arg16Gly, asma bronchiale, popolazione pediatrica, metanalisi

Riferimento bibliografico:

[Finkelstein Y](#) et al. *J Asthma* 2009, 46(9): 900-5

NOTIZIE IN BREVE**IL GENE NOTCH E' RESPONSABILE DEL 30% DELLE NEOPLASIE POLMONARI**

A cura del Prof. Achille Caputi

Uno studio in pubblicazione sulla rivista scientifica *PNAS* e condotto al Campus IFOM-IEO di Milano da scienziati e medici dell'IFOM, Fondazione Istituto FIRC di Oncologia Molecolare, dello IEO, Istituto Europeo di Oncologia e dell'Università degli Studi di Milano, ha dimostrato che più di un terzo dei tumori polmonari mostrano una alterazione funzionale del gene *NOTCH*.

Tale gene era già noto per essere coinvolto nella formazione e nello sviluppo di alcuni tipi di leucemie, mentre non era ancora ben chiara la sua correlazione con i tumori solidi che costituiscono il gruppo più frequente di neoplasie umane. In un'ampia percentuale di questi casi l'alterata attività dell'oncogene *NOTCH* è causata dalla perdita dell'espressione del suo antagonista biologico: la proteina NUMB, già caratterizzata in passato dallo stesso gruppo di ricercatori come gene soppressore della crescita tumorale nel cancro della mammella.

Pier Paolo Di Fiore, uno dei due autori principali dello studio, ha spiegato che in passato si era già osservato che la perdita di controllo esercitato dalla proteina NUMB sulla funzione di *NOTCH* è coinvolta nello sviluppo del cancro della mammella e che oggi si è acquisita la certezza che questo accade anche nel cancro del polmone. Tuttavia nel cancro del polmone la novità è costituita dal fatto che l'alterata attività di *NOTCH* può essere causata, in circa il 10% dei casi, dalla presenza di mutazioni interne alla struttura del recettore. Queste mutazioni alterano primariamente la funzione di NOTCH, determinandone auto-attivazione indipendentemente da qualunque altro meccanismo.

I ricercatori hanno inoltre già individuato la strategia terapeutica per revertire il potenziale di crescita tumorale determinata da NOTCH, utilizzando cellule tumorali isolate da tessuti di pazienti con cancro polmonare.

Riferimento bibliografico

[Westhoff B](#) et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Epub ahead of print]

*La redazione augura a tutti un **Sereno Natale** e un **Felice Anno Nuovo***

**GRUPPO DI LAVORO SULLA FARMACOGENETICA
della SOCIETA' ITALIANA DI FARMACOLOGIA**

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Prof. Achille Caputi (Università di Messina) Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: sif@unito.it

DISCLAIMER – Leggere attentamente

Gli autori e redattori del Gruppo di Lavoro sulla Farmacogenetica sono Farmacologi, Medici, Farmacisti e Biologi, e quanto riportato deriva da affidabili ed autorevoli fonti e studi scientifici, accompagnato dai relativi estratti o riferimenti bibliografici alle pubblicazioni. In ogni caso, le informazioni fornite, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php, sulle relative newsletter, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Il servizio è totalmente gratuito e non esistono conflitti di interesse o finalità di lucro. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione della newsletter "SIF – Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.

Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF 2009. È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro Finanziamento della ricerca scientifica e della Università, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori.

Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: 02-29520311
sif.farmacologia@segr.it; sif.informazione@segr.it; sifcese@comm2000.it.